

## 明細書

## 複合体

## 技術分野

[0001] 本発明は、食品原料として有用な、植物ステロールと卵黄リポ蛋白質との複合体及びその製造方法に関する。

## 背景技術

[0002] 植物ステロール及びその飽和型である植物スタノールは、血中の総コレステロール濃度及び低密度リポ蛋白質-コレステロール濃度を低下させることができておらず、また、食品としての安全性も有する。植物ステロールは、植物油脂、大豆、小麦等に含まれているのでヒトは日常的に摂取していることになるが、その摂取量は僅かであることから、近年、植物ステロールを食品原料として利用することへの期待が高まっている。

[0003] しかしながら、植物ステロールは、常温で固体であり(融点140°C前後)、水に溶解せず、油性成分へも溶解し難く、また、植物ステロールの粉体を単に各種食品に添加しただけでは植物ステロールの粉体の粒子同士が凝集し、食品の舌触りがざらつくという問題がある。そのため、食品への利用方法が種々検討されている。

[0004] 例えば、植物ステロールを含むマヨネーズ等の水中油型乳化物を得るために、植物ステロールを油脂に溶解して油相とし、一方、酵素処理卵黄と水から水相を形成し、水相を攪拌しつつ油相を添加混合して乳化物を得ること(特許文献1)、植物ステロール、リン脂質(レシチン)、多価アルコール、水及びエタノールを加温、混合攪拌して均質化し、そこに食用油脂を徐々に加えて水中油型乳化組成物を得ること(特許文献2)、リン脂質とステロールとを有機溶媒に溶解し、その有機溶媒を除去することによりリン脂質とステロールを同時に析出させてこれらの複合体を得、この複合体を乳化剤として使用すること(特許文献3)などが提案されている。

[0005] 特許文献1:特開2002-171931号公報

特許文献2:特開2001-117号公報

特許文献3:特開平4-149194号公報

## 発明の開示

### 発明が解決しようとする課題

- [0006] しかしながら、植物ステロールを一旦油脂に溶解して乳化物を得る方法(特許文献1)や、植物ステロール、リン脂質、多価アルコール、水及びエタノールの混合物に油脂を徐々に添加する方法(特許文献2)では、油脂の使用が前提となるため、これらを水系飲料等の油脂を殆ど含まない食品に利用することはできない。
- [0007] また、植物ステロールとリン脂質から得られた複合体(特許文献3)を使用する方法では、この複合体が単に植物ステロールとリン脂質を混合しただけでは得られず、この複合体を製造するために、植物ステロールとリン脂質を有機溶媒に溶解させた後、瞬間的に有機溶媒を除去することが必要であるため、真空下で溶媒を気化させる噴霧乾燥装置を使用する。この装置は、防爆型で大規模なものとなるので複合体の製造コストが上昇するという問題がある。また、この複合体は植物ステロールに対するリン脂質の含有量が高い。そのため、食品中の植物ステロール含量を高めようすると、リン脂質含量も高くなり、リン脂質の好まれざる風味が食品の風味に影響する。
- [0008] これに対し、本発明は、植物ステロールを、水系食品あるいは乳化食品であっても、食品の風味を損ねることなく、所望量で添加することができ、しかも植物ステロールを添加した食品が、植物ステロール由来のざらつき感のない滑らかな食感を呈するようにすることを目的とする。

### 課題を解決するための手段

- [0009] 本発明者は、(i)卵黄と粉末状の植物ステロールとを水系媒体中で攪拌混合するとこれらが均一に分散すること、(ii)この場合、攪拌混合時の卵黄の希釈率が高いと、攪拌混合後静置することにより、攪拌混合前には水面に浮いていた植物ステロールが沈殿すること、(iii)この沈殿物は相互に凝集することなく、ざらつきのない滑らかな食感を呈し、分離乾燥後、水系媒体に再度分散させると、当初の植物ステロールとは異なって分散性が著しく向上していること、さらに、沈殿が生じた攪拌混合液の上澄みからは、当初卵黄中に存在していた卵黄リポ蛋白質が消失していることから、この沈殿物は植物ステロールと卵黄リポ蛋白質の複合体であると考えられること、(iv)この複合体は、その構成成分の大部分が無味無臭の植物ステロールからなり(例えば、卵

黄固形分1質量部に対して植物ステロール4~185質量部の混合により製造)、また、卵黄が少量含まれるが、卵黄は穏やかな風味を有し、各種食品に原料として多用されているから、この複合体を食品に多量に添加しても、食品本来の食感や風味が損なわれることは殆どないこと、(v)また、複合体における卵黄固形分の割合を少なくできるため、卵黄に含まれる蛋白質の凝集が起こらず、加熱殺菌後も複合体は水系媒体に対して良好な分散性を維持すること、(vi)したがって、この複合体は、食品へ植物ステロールを添加するために極めて有用であることを見出した。

- [0010] 即ち、本発明は、植物ステロールと卵黄リポ蛋白質との複合体を提供し、特に卵黄リポ蛋白質が、リゾ化卵黄、脱コレステロール卵黄、又はリゾ化脱コレステロール卵黄に含まれるリポ蛋白質である態様を提供する。
- [0011] また、本発明は、この複合体を含有する食品を提供する。なお、本発明において、食品には水中油型乳化食品を含まないものとする。
- [0012] 加えて、本発明は、この複合体の製造方法として、卵黄リポ蛋白質と植物ステロールとを水系媒体中で攪拌混合する方法、より具体的には、卵黄液と植物ステロールを攪拌混合するか、あるいは卵黄希釈液と植物ステロールを攪拌混合する方法を提供する。

### 発明の効果

- [0013] 植物ステロールを卵黄リポ蛋白質と複合化した本発明の複合体によれば、微量の卵黄リポ蛋白質で植物ステロールの水系媒体への分散性を大きく向上させる。特に、この効果は、卵黄リポ蛋白質として、リゾ化卵黄、リゾ化脱コレステロール卵黄等の加工卵黄を使用した場合に顕著に向上する。
- [0014] したがって、本発明の複合体を用いることにより、水系食品あるいは乳化食品に、食品の風味を損ねることなく、植物ステロールを所望量で添加することが可能となる。また、複合体を添加した食品に、植物ステロール由来のざらつき感を生じさせることなく、滑らかな食感を付与することが可能となる。
- [0015] さらに、卵黄リポ蛋白質として、脱コレステロール卵黄やリゾ化脱コレステロール卵黄等の加工卵黄を使用した場合には、卵黄リポ蛋白質中に含まれるコレステロールが除去されているので、本発明の複合体は、血中の総コレステロール濃度及び低密

度リポ蛋白質-コレステロール濃度を低下させるという植物ステロールの摂取目的に、一層かなうものとなる。

### 図面の簡単な説明

[0016] [図1]図1は、植物ステロールと卵黄リポ蛋白質との複合体の調製方法を示すフローシートである。

[図2]図2は、植物ステロールと卵黄から複合体を形成した場合における、植物ステロールと卵黄固形分との比率と、複合体の分散液の上澄みの吸光度との関係図である。

[図3]図3は、植物ステロールと卵黄を攪拌混合することにより得た複合体の分散液の濾液の電気泳動パターンである。

[図4]図4は、複合体の電子顕微鏡写真である。

### 発明を実施するための最良の形態

[0017] 以下、本発明を詳細に説明する。なお、本発明において「%」は、特にことわらない限り「質量%」を意味する。

[0018] 本発明において、卵黄とは、割卵して卵白と分離した卵黄液、乾燥卵黄、冷凍卵黄、加熱殺菌卵黄等の種々の形態の卵黄をいう。この卵黄には、リゾ化、脱コレステロール化、リゾ化脱コレステロール化等の種々の処理を行った加工卵黄も含まれる。

[0019] 卵黄液とは、割卵して卵白と分離したもの、加熱殺菌卵黄、冷凍卵黄を解凍したもの、乾燥卵黄粉を通常の卵黄程度に水戻したもの、また、リゾ化、脱コレステロール化、リゾ化脱コレステロール化等の種々の処理をした卵黄であって、希釀していない液状の卵黄をいう。

[0020] 卵黄希釀液とは、上述の卵黄を水、卵白液、調味料(例えば、醤油、だし汁)等の水系媒体で希釀したものをいう。

[0021] 卵黄リポ蛋白質は、蛋白質と、親水部分と疎水部分を有するリン脂質、及びトリアシルグリセロールやコレステロール等の中性脂質とからなる複合体である。この複合体は、蛋白質やリン脂質の親水部分を外側にし、疎水部分を内側にして、中性脂質を包んだ構造をしている。この卵黄リポ蛋白質は、卵黄の主成分であって、卵黄固形分中の約80%を占める。卵黄固形分は、割卵して卵白と分離した卵黄液の約50% (工

業的に割卵した場合には、卵白混入により約45%)を占めるから、卵黄リポ蛋白質は卵黄液の36ー40%となる。

- [0022] リゾ化卵黄に含まれる卵黄リポ蛋白質は、上述の卵黄リポ蛋白質を構成するリン脂質の一部又は全部が、加水分解されてリゾリン脂質となっているものである。本発明の複合体においてリゾ化卵黄に含まれる卵黄リポ蛋白質を用いると、植物ステロールの分散性を顕著に向上させることができるので好ましい。
- [0023] リゾ化卵黄は、生卵黄、あるいは乾燥卵黄粉を水戻しする等により得られる卵黄液を、酵素処理してその含有リン脂質をリゾ化することにより得られる。酵素処理に使用する酵素としては、ホスホリパーゼA(ホスホリパーゼA<sub>1</sub>、ホスホリパーゼA<sub>2</sub>)を用いるのが一般的である。卵黄をホスホリパーゼAで処理することにより、卵黄の主成分である卵黄リポ蛋白質の構成リン脂質にホスホリパーゼAが作用し、そのリン脂質の1位あるいは2位の脂肪酸残基が加水分解されてリゾリン脂質となったものを得ることができる。
- [0024] 酵素処理条件は、例えば、ホスホリパーゼAを使用する場合、その使用量を卵黄1kg当たり酵素活性 $10^2$ ー $10^4$  ユニット程度とし、温度45ー55°C、pH6ー8の条件下で2ー12時間程度反応させればよい。また、本発明において好ましいリゾ化率(酵素処理後におけるリゾホスファチジルコリンとホスファチジルコリンの合計質量に対するリゾホスファチジルコリンの質量割合)は、イヤトロスキャン法(TLC-FID法)で分析した場合に、10%以上、より好ましくは30%以上である。なお、90%を超えると苦味を呈する傾向がある。
- [0025] 一方、脱コレステロール卵黄とは、卵黄中に存在するコレステロールを減少させ、あるいは除去した加工卵黄である。なお、生の卵黄のコレステロール含量は約1.2%である。本発明の複合体において脱コレステロール卵黄を使用すると、植物ステロールの分散性を向上させることができ、また、複合体の摂取に伴うコレステロールの摂取を低減させることができるので、好ましい。
- [0026] 卵黄の脱コレステロール処理としては、超臨界二酸化炭素を用いる方法が効率的であり、その際、脱コレステロール処理する卵黄液を予め乾燥しておくことが、脱コレステロール処理をより効率的に行う点から好ましい。この場合の乾燥手段は特に限定

されず、例えば噴霧乾燥、凍結乾燥等の方法で、脱糖卵黄の水分含量を1～6%程度にすればよい。この乾燥処理により卵黄中のコレステロールも濃縮されて、含有量が2～3%程度になる。

- [0027] また、脱コレステロール処理する卵黄液は、予め、脱糖処理をしておけば、得られる脱コレステロール乾燥卵黄が褐変し難く鮮やかな色彩のものとすることができますので好ましい。脱糖処理には、細菌、酵母、酵素を使用する方法等があり、例えば、酵母を使用する場合には、卵黄液に酵母を0.2%程度添加し、30℃の恒温室にて攪拌しながら3時間保管して脱糖を行い、60℃に達した後その温度で3分間保持して発酵を停止させ、冷却することにより脱糖卵黄液を得ることができる。生の卵黄液には遊離のグルコースが約0.2%含まれているが、かかる脱糖処理により、0.02～0.1%程度にまで低減させることができる。
- [0028] 次に、超臨界二酸化炭素を用いた脱コレステロール処理では、31.0℃の臨界温度あるいはそれ以上の温度、および7.14MPaの臨界圧あるいはそれ以上の圧力の条件下にある二酸化炭素、特に、温度35～45℃、及び圧力13～50MPaの条件下にある超臨界二酸化炭素を用いて卵黄を処理する。この超臨界二酸化炭素を用いた脱コレステロール処理自体は、従来法に準じて行えばよい。それにより、例えば、処理後の脱コレステロール乾燥卵黄中のコレステロール含有量を0.1～1.0%程度とする。
- [0029] なお、卵黄からコレステロールを除去する他の方法としては、卵黄を食用油と混合し、次いで食用油を分離除去する操作を1回から数回行う方法を用いることもできる。
- [0030] また、本発明においてコレステロール含有量の測定方法は、科学技術庁資源調査会食品成分部会「日本食品標準成分表分析マニュアル」(平成9年1月発行)に記載の「コレステロール定量法A」に準拠した。
- [0031] リゾ化脱コレステロール卵黄は、上述のリゾ化卵黄を超臨界二酸化炭素等で脱コレステロール処理したものである。超臨界二酸化炭素による脱コレステロール処理を上述と同様に行うことにより、処理後の加工乾燥卵黄中のコレステロール含有量が0.1～1.0%程度になるようにするのが好ましい。
- [0032] 一方、植物ステロールは、コレステロールに類似した構造をもち、植物の脂溶性画

分に数%存在し、融点が約140°C前後であり、常温で固体である。本発明で用いる植物ステロールの種類については特に制限はなく、例えば、 $\beta$ -シットステロール、スチグマステロール、カンペステロール、ブラシカステロール等を挙げることができる。また、植物ステロールの飽和型である植物スタノールも、天然物の他、植物ステロールを水素添加により飽和させたものを使用することができる。

- [0033] なお、本発明において、植物ステロールは所謂遊離体を主成分とするが、若干量のエステル体を含有していてもよい。
- [0034] 本発明に用いる植物ステロールの形態としては、フレーク状或いは粉体の状態で市販されているものを用いることができるが、平均粒子径が50  $\mu$  m以下、特に10  $\mu$  m以下の粉体を使用することが好ましい。平均粒子径が50  $\mu$  mを超えるフレーク状あるいは粉体の植物ステロールを用いる場合には、卵黄と攪拌混合して複合体を製造する際に、均質機(T. K.マイクロイダー、特殊機化工業社製等)を用いて平均粒子径を小さくしつつ攪拌混合が行われるようにすることが好ましい。これにより、植物ステロールと卵黄リポ蛋白質との複合体が形成され易くなり、分散性が向上し、また、口当たりが滑らかとなる。
- [0035] なお、植物ステロールの平均粒子径の測定方法としては、20°Cの清水と植物ステロールとを混合し、レーザー回折式粒度分布測定装置(島津製作所製、SALD-200V ER)にて測定し、体積換算する方法がある。
- [0036] 本発明の植物ステロールと卵黄リポ蛋白質との複合体は、上述の植物ステロールと卵黄リポ蛋白質とを、好ましくは水系媒体中で、攪拌混合することにより得られる。この複合体は、両親媒性をもつ卵黄リポ蛋白質が、その疎水部分を疎水的な植物ステロールの表面に付着させ、親水部分を外側(水側)に向けて植物ステロールを覆ったものであり、これにより、複合体は表面が親水化されて水分散可能となり、相互に凝集する事なく、水中に安定に分散し、また、相互に凝集しないため、食品に添加してもざらつき感が生じにくいと推察される。
- [0037] なお、従来、植物ステロールの乳化物を得るためにリン脂質が使用されており(特許文献2、特許文献3参照)、一方、卵黄にはリン脂質(卵黄リン脂質)が含まれている。しかしながら、卵黄中のリン脂質は蛋白質と結合した卵黄リポ蛋白質の形態で存

在するため、卵黄中で複合体を形成しているリン脂質と、特許文献2、3に記載されているリン脂質とでは、植物ステロールに対する作用が全く異なる。即ち、卵黄リポ蛋白質が植物ステロールと水系媒体中で攪拌混合するだけで複合体を形成するのに対し、リン脂質単独では卵黄リポ蛋白質のように複合体を形成することはないと推察される(参考例2参照)。

- [0038] 本発明において、植物ステロールと卵黄リポ蛋白質とを攪拌混合する具体的な様としては、卵黄リポ蛋白質として、卵黄を水系媒体で適宜希釈した卵黄希釈液を使用することが好ましい。この場合、割卵して卵白と分離した卵黄液は植物ステロールと攪拌混合する際に、必ずしも水系媒体で希釈する必要はないが、乾燥卵黄は水系媒体で希釈して使用する。これにより、植物ステロールと卵黄リポ蛋白質の攪拌が容易となり、植物ステロールと卵黄リポ蛋白質との複合体が形成され易くなるので望ましい。ここで、水系媒体の割合が少な過ぎると相対的に植物ステロールの割合が高まり、卵黄希釈液の粘度が高くなるので攪拌に長時間を要し、反対に水系媒体の割合が多すぎると複合体に占める卵黄リポ蛋白質の割合が過度に少なくなり、複合体の水系媒体に対する分散性が低下するので好ましくない。
- [0039] 卵黄希釈液の調製に使用する水系媒体としては、水分が90質量%以上のものが好ましく、例えば、清水の他に卵白液、調味料(例えば、醤油、だし汁)等を使用してもよい。なお、水系媒体にはサラダ油等の油脂やアルコール等の有機溶剤を少量添加することも可能であるが、サラダ油等の油脂を多量に添加すると、植物ステロールは油脂との親和性が大きいため、植物ステロールと卵黄リポ蛋白質との結合が弱くなり、また、アルコール等の有機溶剤を多量に添加すると、卵黄リポ蛋白質が変性されるおそれがあり、いずれの場合も植物ステロールと卵黄リポ蛋白質との複合体の生成が妨げられるので好ましくない。
- [0040] 卵黄と植物ステロールとを水系媒体中で攪拌混合して植物ステロールと卵黄リポ蛋白質との複合体を形成するにあたり、卵黄は植物ステロールに対して極少量を使用しても、複合体の水系媒体への分散性を向上させることができる。例えば、植物ステロール100質量部を水に分散させるために、卵黄固形分は0.54質量部以上あればよく、言い換えれば、卵黄固形分1質量部に対して植物ステロール185質量部以下と

すればよい。

- [0041] また、複合体の形成時の卵黄と植物ステロールとの混合比率は、卵黄固形分1質量部に対する植物ステロールの比率が高いほど、複合体を食品に添加した場合に、複合体中の卵黄がその食品の風味や食感に及ぼす影響を低減できる。したがって、食品の種類により、卵黄の風味の影響を押さえることが必要とされる場合には、植物ステロールに対して卵黄を過剰に加えることは望ましくなく、その点からは卵黄固形分1質量部に対して植物ステロールを4質量部以上混合することが好ましい。
- [0042] 以上により、複合体の形成時の卵黄と植物ステロールとの混合比率は、卵黄固形分1質量部に対して、植物ステロールを4—185質量部とすることが好ましい。卵黄固形分中に卵黄リポ蛋白質は約8割存在するから、上述の割合で植物ステロールと卵黄とを攪拌混合することにより、卵黄リポ蛋白質1質量部に対して植物ステロール5—232質量部の複合体を得ることができる。
- [0043] 植物ステロールと卵黄リポ蛋白質との複合体の代表的な製造方法は次の通りである。まず、鶏卵を割卵して卵白を取り除き、卵黄を取り出して卵黄液とする。
- [0044] 次に、卵黄液と清水等の水系媒体を攪拌混合して、卵黄液を希釈する。卵黄液を希釈しなくとも、植物ステロールと卵黄リポ蛋白質との複合体を調製することはできるが、水分が少ないと植物ステロールの添加量が多くなるにつれて高粘度となり、攪拌に大きな力と長い時間を要するので、卵黄リポ蛋白質1質量部に対する植物ステロールの比率を高める必要がある場合には、適宜、卵黄液を清水等の水系媒体で希釈し、卵黄希釈液とすることが望ましい。
- [0045] 次に、卵黄希釈液と植物ステロールとをホモミキサー、コロイドミル、高圧ホモジナイザー、T. K. マイクロイダー(特殊機化工業社製)等の均質機を用いて、全体が均一になるまで混合攪拌し(例えば、10000rpm、5—20分間)、植物ステロールと卵黄リポ蛋白質の複合体を調製する。攪拌混合時の温度は、常温(20°C)でもよいが、45—55°Cに加温しておくとより望ましい。
- [0046] 得られた複合体は分散液の状態で食品に用いることができるが、長期保存するために凍結乾燥、噴霧乾燥等により乾燥粉体とすることもできる。
- [0047] 複合体を含有させることのできる食品の具体例としては、例えば、卵焼、スクランブル

ルエッグ、オムレツ、茶碗蒸し等の卵加工製品、かまぼこ、ちくわ等の水産練製品、ハンバーグ、ソーセージ等の畜肉加工製品、麺類、牛乳、乳酸菌飲料等の飲料、ドレッシング、マヨネーズ等の調味料、アイスクリーム、ケーキ、クッキー等の菓子類などをあげることができる。

- [0048] また、複合体の食品への好ましい添加量は、当該食品によるが、植物ステロールの1日の摂取量が1g以上であれば血中のコレステロール濃度が低下することを考慮して、例えば、牛乳や卵焼きの場合、その0.5~10質量%程度とする。
- [0049] なお、食品の中でも、卵焼き、茶碗蒸し、マヨネーズ等のように卵黄を原料として多く用いるものの場合、予め原料である卵黄に植物ステロールを直接添加することにより複合体を形成すればよく、他方、乳飲料、コーヒー等のように一般に卵黄を原料として用いない食品の場合には、卵黄の割合をなるべく減らして製造した複合体を添加すればよい。

### 実施例

- [0050] 以下、本発明を実施例に基づいて具体的に説明する。
- [0051] 実施例1：複合体の構成成分の解析
- (1) 図1のフローシートにより、植物ステロールと卵黄から植物ステロールと卵黄リポ蛋白質との複合体を次のように調製した。
- [0052] まず、卵黄液5g(卵黄固形分2.5g、卵黄固形分中卵黄リポ蛋白質約2g)に清水95gを加え、攪拌機(日音医理器械製作所社製、ヒスコトロン)で2000rpmで1分間攪拌して卵黄希釀液を調製した。次に5000rpmで攪拌しながら植物ステロール(遊離体97.8%、エステル体2.2%、平均粒子径約3μm)2.5gを添加し、さらに1000rpmで5分間攪拌し、植物ステロールと卵黄リポ蛋白質とから形成される複合体の分散液を得た。
- [0053] 得られた分散液1gを取り、0.9%食塩水4gを加え、真空乾燥機(東京理器械社製、VOS-450D)で真空度を10mmHgにして1分間脱気し、遠心分離器(国産遠心分離器社製、モデルH-108ND)で3000rpmで15分間遠心分離を行い、沈澱と上澄みとを分離した。この上澄みを0.45μmのフィルターで濾過し、さらに0.2μmのフィルターで濾過し、複合体と、複合体を形成していない植物ステロールとを除去

した。

[0054] この濾液の吸光度(O. D.)を、分光光度計(日立製作所製、U-2010)を用いて、0.9%食塩水を対照とし、280nm(蛋白質中の芳香環をもつアミノ酸の吸収)で測定し、濾液中の蛋白質の量を測定した。

[0055] 植物ステロールの添加量を表1のように変え、同様に吸光度を測定した(実施例1-2～実施例1-8)。

この結果を表1及び図2に示す。

[0056] [表1]

	植物ステロール 添加量(g)	植物ステロール/卵黄固形 分(質量比)	植物ステロール/卵黄リポ蛋白質(質量比)	濾液の吸光度 (280nm)
実施例1-1	2.5	1	1.3	2.770
実施例1-2	5.0	2	2.5	1.842
実施例1-3	7.5	3	3.8	1.002
実施例1-4	10.0	4	5.0	0.626
実施例1-5	12.5	5	6.3	0.590
実施例1-6	15.0	6	7.5	0.548
実施例1-7	17.5	7	8.8	0.577
実施例1-8	20.0	8	10.0	0.536

[0057] 表1及び図2から、卵黄固形分1gに対して植物ステロールが4g以下であると、卵黄固形分に対する植物ステロールの割合が増えるのに伴って濾液の吸光度が小さくなっていることがわかる。したがって、卵黄希釈液への植物ステロールの添加により、卵黄に含まれる蛋白質と植物ステロールとが結合し、濾液中の蛋白質濃度が低下したと考えられる。一方、卵黄固形分1gに対する植物ステロールが4g以上となると、濾液の吸光度は略一定となることから、濾液中には、植物ステロールと結合しない蛋白質が存在することがわかる。

[0058] また、卵黄固形分1gに対して植物ステロールが4g以下であると、植物ステロールと結合する蛋白質が濾液中に余っているから、卵黄固形分1gを余すことなく複合体の形成に使用するためには、植物ステロールが4g以上必要であることがわかる(卵黄リポ蛋白質1gに対しては植物ステロール5g以上)。

[0059] (2) (1)で得た実施例1-1の濾液と、実施例1-6の濾液に存在する蛋白質について、前述の280nmの他に440nmの吸光度を測定し、440nmの吸光度と280nmの吸光度の比をとった。ここで、440nmは、リポ蛋白質中に含まれる油溶性の色素(カロチン)の吸収波長である。

この結果を表2に示す。

[0060] [表2]

	植物ステロール 添加量(g)	植物ステロール/ 卵黄固形分 (質量比)	植物ステロール/卵 黄リポ蛋白質(質 量比)	濾液の吸光度		吸光度の比 (440nm/ 280nm)
				280nm	440nm	
実施例1-1	2.5	1	1.3	2.770	1.208	0.44
実施例1-6	15.0	6	7.5	0.548	0.100	0.18

[0061] 表2から、実施例1-6のように植物ステロールに対して適量の卵黄が結合している場合には、440nmの吸光度が極めて低いことから、濾液中に卵黄リポ蛋白質は殆ど残っていない。したがって、卵黄リポ蛋白質が、植物ステロールと複合体を形成することがわかる。

[0062] また、実施例1-1のように植物ステロールに対する卵黄の量が過剰である場合、280nmと440nmの双方の吸光度が高く、また、440nmの吸光度と280nmの吸光度の比が実施例1-6に比して大きいので、濾液中に複合体を形成し得る卵黄リポ蛋白質と、複合体を形成し得ない蛋白質の両方が存在すること、及び、卵黄リポ蛋白質が実施例1-6に比して多く残っていることがわかる。

[0063] (3) (1)で得た実施例1-1の濾液と、実施例1-6の濾液にSDSポリアクリルアミドゲル電気泳動を行うことにより、植物ステロールと複合体を形成し得る蛋白質と、植物ステロールと複合体を形成しない蛋白質がそれぞれ何であるかを調べた。

[0064] この場合、電気泳動の測定条件としては、濾液の一部を凍結乾燥してサンプルバッファーで溶解し、その一定量を4-20%の濃度勾配のゲルにのせ、20mAの定電流で泳動し、蛋白質をクマシーブルーで染色した。(サンプルバッファーの組成:蒸留

水5.0mL、0.5Mトリス塩酸緩衝液1.25mL、グリセロール1.0mL、10%SDS2.0mL、2-メルカプトエタノール0.5mL、0.05%プロモフェノールブルー0.05mL)この電気泳動パターンを図3に示す。

- [0065] この結果、植物ステロールに対する卵黄の割合が過剰である実施例1-1の電気泳動パターンには、水溶性画分特有の蛋白質(図3の分子量36.5×1000)と卵黄リポ蛋白質特有の蛋白質(図3の分子量200×1000)の双方が検出されたが、実施例1-6のように、植物ステロールに対する卵黄の割合が過剰でない場合には、卵黄リポ蛋白質特有の蛋白質は検出されず、水溶性画分特有の蛋白質のみ検出された。これにより卵黄の中で、複合体を形成しない蛋白質は水溶性画分特有の蛋白質であり、複合体を形成する蛋白質は卵黄リポ蛋白質であることがわかる。
- [0066] (4) 実施例1-4で上澄を分離した残りの沈殿物を、沈殿物量の約60倍量の生理食塩水で洗浄し、再度遠心分離により沈殿物を得、これを凍結乾燥することにより複合体紛体を得、その紛体を導電性テープに分散させ、導電性をもたせるためカーボン蒸着を行い、電解放射型走査電子顕微鏡(日本電子(株)製、JSM-7400F)で写真を撮った(加速電圧5kV、倍率10万)。この写真を図4に示す。この写真から、植物ステロールの表面をリポ蛋白質(LDL)が覆っていることがわかる。
- [0067] 実施例2A:複合体調製時の植物ステロールと卵黄液の割合等の検討  
鶏卵を工業的に割卵して得られた卵黄液(固形分45%)と清水の量と植物ステロールの量を表3Aの通りに変更して、植物ステロールと卵黄リポ蛋白質の複合体の分散液を調製し、この分散液の分散性と攪拌性から、植物ステロールと卵黄リポ蛋白質の複合体を調製するに際して望ましい水分量や、植物ステロールと卵黄液との割合を検討した。
- [0068] この場合、鶏卵を割卵して取り出した卵黄液(固形分45%)に清水を加え、攪拌機(日音医理器械製作所社製、ヒストロン)で2000rpm、1分間攪拌して卵黄液と清水をなじませた後、45°Cに加温し、次に5000rpmで攪拌しながら植物ステロール(実施例1と同じもの)を逐々に添加し、添加し終えたところで、さらに10000rpmで攪拌して植物ステロールと卵黄リポ蛋白質の複合体の分散液を得た。
- [0069] また、分散液の分散性に関しては、植物ステロールと卵黄リポ蛋白質の複合体の分

散液0.5gを試験管(内径1.6cm、高さ17.5cm)にとり、0.9%食塩水10mLで希釈し、試験管ミキサー(IWAKI GLASS MODEL-TM-151)で10秒間攪拌することにより振盪し、その後1時間室温で静置し、さらに真空乾燥機(東京理化器械社製、VOS-450D)に入れ、真空度を10mmHg以下にして室温(20°C)で脱気を行い、脱気後に浮上物が見られない場合を○、浮上物が見られた場合を×と判定した。なお、植物ステロールを加熱溶解し、冷却し、比重の異なるエタノール液に浸けて浮き沈みによりその比重を求めたところ、0.98であったことから、上述の分散性の試験での浮上物は植物ステロールであると考えられる。

これらの結果を表3Aに示す。

[0070] [表3A]

実施例	組成			分散液中 の水分濃度(%)	植物ステロール ／卵黄固形分 (質量比)	植物ステロール ／卵黄リポ蛋白質 (質量比)	水分／卵 黄固形分 (質量比)	分散性
	卵黄液 (g)	清水 (g)	植物ステロール (g)					
2A-1	100	0	43.2	38.4	1.0	1.2	1.2	○
2A-2	67	33	56.7	44.9	1.8	2.3	2.3	○
2A-3	50	50	58.5	48.9	2.6	3.3	3.4	○
2A-4	33	67	64.8	51.7	4.4	5.5	5.7	○
2A-5	10	90	49.4	63.9	11.0	13.7	21.2	○
2A-6	5	95	35.5	72.1	15.8	20	43.4	○
2A-7	2	98	20.0	82.6	22.2	27.8	110.1	○
2A-8	0.45	99.55	20.0	83.2	98.8	123.5	492.8	○
2A-9			25.0	79.8	123.5	154.3		○
2A-10			30.0	76.8	148.1	185.2		○
2A-11	0.18	99.82	5.0	95.2	61.7	77.2	1233.6	○
2A-12			10.0	90.8	123.5	154.3		○
2A-13			15.0	86.9	185.2	231.5		○
2A-14			20.0	83.3	246.9	308.6		×
2A-15			25.0	79.9	308.6	385.8		×

[0071] 表3Aから、複合体に良好な分散性を付与するためには、卵黄固形分1gに対して植物ステロール185g(卵黄リポ蛋白質1gに対して植物ステロール約232g)(実施例2A-13)以下を使用すること、言い換えれば、植物ステロール100質量部を水に分散させるために、卵黄固形分は0.54質量部以上(卵黄リポ蛋白質0.43質量部以上)という僅かな使用量でよいことがわかる。

[0072] なお、表3Aに示す実施例2A-1、2A-2では、植物ステロールを添加するとやや高粘度になり、攪拌混合に10分間以上の時間を要したが、実施例2A-3～2A-13では容易に短時間(5分間程度)で攪拌混合することができた。したがって、分散液中の水分濃度は、48.9%以上が好ましいことがわかる。

[0073] 実施例2B:複合体調製時の植物ステロールとリゾ化卵黄液の割合等の検討

鶏卵を工業的に割卵して得られた卵黄液(固形分45%)に食塩を加えて食塩濃度10質量%の加塩卵黄液とし、これをホスホリパーゼA<sub>2</sub>で酵素処理してリゾ化率50%のリゾ化加塩卵黄液を得た。

[0074] 次に、上記実施例2Aと同じ方法により、上記リゾ化卵黄液と清水の量と植物ステロールの量を表3Bの通りに変更して、植物ステロールと卵黄リポ蛋白質の複合体の分散液を調製し、この分散液の分散性から、植物ステロールと卵黄リポ蛋白質の複合体を調製するに際して望ましい植物ステロールとリゾ化卵黄液との割合を実施例2Aと同様に検討した。

結果を表3Bに示す。

[0075] [表3B]

実施例	組成			分散液中の水分濃度(%)	植物ステロール/卵黄固形分(質量比)	植物ステロール/卵黄リポ蛋白質(質量比)	水分/卵黄固形分(質量比)	分散性
	リゾ化卵黄液(g)	清水(g)	植物ステロール(g)					
2B-1	0.5	99.5	20.0	83.1	98.8	123.5	492.6	○
2B-2			25.0	79.8	123.5	154.3		○
2B-3			30.0	76.7	148.1	185.2		○
2B-4	0.2	99.8	5.0	95.1	61.7	77.2	1233.3	○
2B-5			10.0	90.8	123.5	154.3		○
2B-6			15.0	86.9	185.2	231.5		○
2B-7			20.0	83.2	246.9	308.6		○
2B-8			25.0	79.9	308.6	385.8		×

[0076] 表3Bから、複合体に良好な分散性を付与するためには、卵黄固形分1gに対して植物ステロール247g(実施例2Aの未処理卵黄の約1.3倍)以下を使用すること(実

施例2B-7参照)、言い換えれば、植物ステロール100質量部を水に分散させるために、卵黄固体分は0.40質量部以上という僅かな使用量でよいことがわかる。

[0077] このように、リゾ化卵黄液における植物ステロールを水に分散させる能力が、未処理卵黄の約1.3倍大きいのは、リゾ化卵黄液では、酵素処理により卵黄リポ蛋白質に含まれるリン脂質がリゾ化して親水性が向上しているため、卵黄リポ蛋白質と植物ステロールとの複合体の親水性も向上し、水への分散能力が高まったものと推察される。

[0078] 実施例2C:複合体調製時の植物ステロールと脱コレステロール卵黄の割合等の検討

鶏卵を工業的に割卵して得られた卵黄液(固体分45%)を、酵母を用いて脱糖処理した後乾燥し、超臨界二酸化炭素によりコレステロールを除去して、コレステロール含量0.25%、固体分95%(105°C乾燥法により測定)の脱コレステロール乾燥卵黄を得た。

[0079] この脱コレステロール乾燥卵黄と清水の量と植物ステロールの量を表3Cの通りに変更して、植物ステロールと卵黄リポ蛋白質の複合体の分散液を調製し、この分散液の分散性から、植物ステロールと卵黄リポ蛋白質の複合体を調製するに際して望ましい植物ステロールと脱コレステロール卵黄との割合を検討した。

[0080] この場合、脱コレステロール乾燥卵黄に清水を加え、攪拌機(ヒストロン)で5000rpm、2分間攪拌して脱コレステロール卵黄液と清水をなじませた後、45°Cに加温し、次に8000rpmで攪拌しながら植物ステロール(実施例1と同じもの)を除々に添加し、添加し終えたところで、さらに10000rpmで攪拌して植物ステロールと卵黄リポ蛋白質の複合体の分散液を得た。

[0081] 以下、上記実施例2Aと同じ方法により分散性を評価した。  
結果を表3Cに示す。

[0082] [表3C]

実施例	組成			分散液中の水分濃度(%)	植物ステロール/脱コレステロール卵黄 固形分(質量比)	水分/脱コレステロール卵黄 固形分(質量比)	分散性
	脱コレステロール乾燥卵黄(g)	清水(g)	植物ステロール(g)				
2C-1	0.5	99.5	20.0	82.9	42.1	209.5	○
2C-2			25.0	79.6	52.6		○
2C-3			30.0	76.6	63.2		○
2C-4	0.1	99.9	10.0	90.8	105.3	1051.6	○
2C-5			15.0	86.9	157.9		○
2C-6			20.0	83.3	210.5		○
2C-7			25.0	79.9	263.2		×
2C-8			30.0	76.9	315.8		×

[0083] 表3Cから、複合体に良好な分散性を付与するためには、脱コレステロール乾燥卵黄1g(固体分換算)に対して植物ステロール211g(実施例2Aの未処理卵黄の約1.1倍)以下を使用すること(実施例2C-6参照)、言い換えれば、植物ステロール100質量部を水に分散させるために、脱コレステロール乾燥卵黄は0.47質量部(固体分換算)以上という僅かな使用量でよいことがわかる。

[0084] このように、脱コレステロール乾燥卵黄における植物ステロールを水に分散させる能力が、未処理卵黄の約1.1倍と大きいのは、脱コレステロール乾燥卵黄では、脱コレステロール処理により、卵黄リポ蛋白質から植物ステロールとの複合体生成に寄与しないコレステロールや中性脂質が除去され、植物ステロールとの複合体生成に寄与する蛋白質やリン脂質の濃度が相対的に高まったためと推察される。

[0085] 実施例2D:複合体調製時の植物ステロールとリゾ化脱コレステロール卵黄の割合等の検討

鶏卵を工業的に割卵して得られた卵黄液(固体分45%)をホスホリパーゼA<sub>2</sub>で酵素処理してリゾ化率55%のリゾ化卵黄液を得た。次いでこの卵黄液を乾燥し、超臨界二酸化炭素によりコレステロールを除去して、コレステロール含量0.15%、固体分9.6%(105°C乾燥法により測定)のリゾ化脱コレステロール乾燥卵黄を得た。

[0086] このリゾ化脱コレステロール乾燥卵黄と清水の量と植物ステロールの量を表3Dの

通りに変更して、植物ステロールと卵黄リポ蛋白質の複合体の分散液を実施例2Cと同様に調製し、この分散液の分散性から、植物ステロールと卵黄リポ蛋白質の複合体を調製するに際して望ましい植物ステロールとリゾ化脱コレステロール卵黄との割合を実施例2Aと同様の方法で検討した。

結果を表3Dに示す。

[0087] [表3D]

実施例	組成			分散液中の水分濃度(%)	植物ステロール/リゾ化脱コレステロール卵黄固形分(質量比)	水分/リゾ化脱コレステロール卵黄固形分(質量比)	分散性
	リゾ化脱コレステロール(㌘)	清水(㌘)	植物ステロール(㌘)				
2D-1	0.5	99.5	20.0	82.9	41.7	207.3	○
2D-2			25.0	79.6	52.1		○
2D-3	0.1	99.9	10.0	90.8	104.2	1040.7	○
2D-4			15.0	86.9	156.3		○
2D-5			20.0	83.3	208.3		○
2D-6			25.0	79.9	260.4		○
2D-7			30.0	76.8	312.5		○
2D-8			35.0	74.0	364.6		×

[0088] 表3Dから、複合体に良好な分散性を付与するためには、リゾ化脱コレステロール乾燥卵黄1g(固形分換算)に対して植物ステロール313g(実施例2Aの未処理卵黄の約1.7倍)以下を使用すること(実施例2D-7参照)、言い換えれば、植物ステロール100質量部を水に分散させるために、脱コレステロール乾燥卵黄は0.32質量部(固形分換算)以上という僅かな使用量でよいことがわかる。

[0089] このように、リゾ化脱コレステロール乾燥卵黄における植物ステロールを水に分散させる能力が、未処理卵黄の約1.7倍と極めて大きいのは、上述のリゾ化処理による卵黄リポ蛋白質の親水性向上と、卵黄リポ蛋白質中の複合体生成に寄与する蛋白質やリン脂質の脱コレステロール処理による濃縮との相乗作用によるものと推察される。

[0090] 実施例3:植物ステロール添加卵焼

鶏卵を工業的に割卵して取り出した卵黄液(固形分45%)を攪拌機(日音医理科

器械製作所社製、ヒスコトロン)に入れ5000rpmで攪拌しながら、植物ステロール(実施例1と同じもの)5% (卵黄リポ蛋白質1gに対して植物ステロール0.15g)、10% (卵黄リポ蛋白質1gに対して植物ステロール0.31g)又は20% (卵黄リポ蛋白質1gに対して植物ステロール0.69g)となるように、それぞれ除々に添加し、添加後10000rpmでさらに5分間攪拌して、3通りの植物ステロール濃度について、植物ステロールと卵黄リポ蛋白質の複合体の分散液を調製した(実施例3-1～3-3)。なお、実施例1(1)により、卵黄リポ蛋白質1gに対して植物ステロールが5g以下であると、卵黄リポ蛋白質が分散液中に余った状態であるから、これら実施例3-1～3-3の分散液では卵黄リポ蛋白質が過剰に存在することになる。

- [0091] 得られた複合体の分散液を用いて表4の配合に基づいて卵焼スラリーを調製し、厚焼卵を焼成し、試食した。
- [0092] また、対照として、植物ステロールを混合しない以外は実施例3と同様にして厚焼卵を焼成し、試食した。
- これらの結果を表5に示す。
- [0093] [表4]

卵焼スラリーの配合 (g)

複合体の分散液	18
卵白液	62
上白糖	7
みりん	0.5
醤油	0.5
清水	12
(合計)	(100)

[0094] [表5]

	分散液への植物ステロール添加量(%)	分散液中の植物ステロール／卵黄リポ蛋白質(質量部)	卵焼入り中の植物ステロール濃度(%)	卵焼の食感	卵焼の卵風味
対照	0	0	0	歯ごたえがあり滑らか、良好	あり
実施例3-1	5	0.15	0.9	同上	あり
実施例3-2	10	0.31	1.8	同上	あり
実施例3-3	20	0.69	3.6	同上	あり

[0095] 表5から、本実施例では、卵焼に植物ステロールを添加しているにもかかわらず、植物ステロールが卵黄リポ蛋白質と複合体を形成しているため、植物ステロールを添加しない対照と同様に、植物ステロールのザラツキがなく、卵風味が良好で食感も良好な、植物ステロール添加卵焼を焼成できたことが理解できる。

[0096] 実施例4:植物ステロール添加飲料

(1)複合体の調製

鶏卵を割卵して取り出した卵黄液18g(卵黄固形分50%、卵黄液中卵黄リポ蛋白質約7.2g)に清水9982gを加え、攪拌機(TKホモミキサー、特殊機化工業社製)を用い、5000rpmで3分間攪拌して均一化し、次いで、攪拌速度を12000rpmにして攪拌しながら植物ステロール(実施例1と同じもの)1500g(卵黄リポ蛋白質1質量部に対して植物ステロール208質量部)を除々に添加し、添加後さらに5分間攪拌を続けた。次いで、マリンプロペラタイプ攪拌機を用いて61℃で4分間加熱して低温殺菌し、植物ステロールと卵黄リポ蛋白質の複合体の分散液を調製した。

[0097] 得られた分散液の一部を凍結乾燥し、乳鉢で粉碎後30メッシュのふるいで濾過し、植物ステロールと卵黄リポ蛋白質の複合体を含むの粉体(複合体含有率99.88%)を得た。

[0098] (2)複合体の分散液の添加飲料

(1)で調製した植物ステロールと卵黄リポ蛋白質の分散液を市販牛乳(pH6.72)、

市販乳酸菌飲料(pH3.67)各17gに3.07g(植物ステロールとして0.4g)添加し、攪拌機(日音医理器械製作所社製、ヒストロン)で10000rpmで2分間攪拌し、植物ステロール入り飲料を調製した。全量を試験管(内径1.6cm、高さ17.5cm)に入れ、3時間、20時間あるいは2日間5°Cで静置し、それぞれの分散状態を観察し、試験管内に形成された浮上層の高さを計測した。

[0099] なお、対照として、植物ステロールと卵黄リポ蛋白質の複合体に代えて、植物ステロール(実施例1と同じもの)0.4gを直接各飲料に同様に分散させた。結果を表6に示す。

[0100] [表6]

	静置時間	対照		実施例4: 複合体添加飲料	
		浮上層(mm)	下層	浮上層(mm)	下層
乳酸菌飲料	3時間	16	均一	無し	均一
	20時間	19	均一	無し	均一
	2日	19	均一	無し	均一
牛乳	3時間	15	均一	無し	均一
	20時間	17	均一	無し	均一

[0101] 表6から、複合体の分散液を添加した乳酸菌飲料と牛乳は、それぞれ5°Cで2日間あるいは20時間保存しても浮上物は見られず、均一に分散していたが、植物ステロールを複合体にすることなく直接飲料に添加した場合には、3時間以内に植物ステロールが浮上し、安定に分散しないことが確認できた。

[0102] 実施例5:複合体の粉体の再分散

実施例4(1)で得た、植物ステロールと卵黄リポ蛋白質の複合体を含有する粉体(複合体含有率99.88%)の0.202g、0.405g、1.52gをそれぞれ試験管(内径16mm、高さ17.5cm)にとり、0.9%食塩水を加えて10gになるように調製し、超音波洗浄機(国際電気エルテック社製、モデルSine・Sonic100)で1分間音波照射し、1時間室温で静置後、複合体の分散状態や浮上層の有無を観察した。

[0103] また、対照として、複合体を含有する粉体に代えて、植物ステロール(実施例1と同じもの)0.2g、0.4g、1.5gを直接食塩水に分散させ、その分散状態や浮上層の有無を観察した。結果を表7に示す。

[0104] [表7]

分散液中の植物ステロールの濃度(%)	対照		実施例5：複合体の粉体の再分散液	
	浮上層	下層	浮上層	下層
2	有り	透明	無し	均一に白濁
4	有り	透明	無し	均一に白濁
15	有り	透明	無し	均一に白濁

[0105] 表7に示したように、対照では植物ステロールが全く分散せず、いずれの添加量においても浮上物が認められ、下層の液は透明であった。これに対し実施例5により複合体の粉体を再分散させた場合、いずれの添加量においても、分散液全体が白濁し、一部に沈殿が見られた。

[0106] 参考例1：マヨネーズ様乳化食品

表8の配合により、植物ステロールと卵黄リポ蛋白質の複合体を次のように調製した。

まず、卵黄液(キューピー社製、加塩卵黄(10%加塩、卵黄固形分40.5%))に清水を加えて攪拌機(TKホモミキサー、特殊機化工業社製)に投入し、5000rpmで3分間攪拌し、清水と卵黄をなじませた。次に、攪拌速度を14000rpmとして攪拌を続けながら、植物ステロール(実施例1と同じもの)を徐々に添加して20分間攪拌し、植物ステロールと卵黄リポ蛋白質の複合体の分散液を得た。

[0107] 得られた複合体の分散液を用いて、表9の配合によりマヨネーズ様乳化食品を次のように調製した。まず、植物ステロールと卵黄リポ蛋白質の複合体の分散液を家庭用ミキサーにとり、液卵白と清水を入れて1分間攪拌し、次いで、食塩、加工澱粉、辛子粉、キサンタンガム、上白糖、グルタミン酸ナトリウムを添加して1分間攪拌し、菜種油

を徐々に添加して3分間攪拌し、食酢を徐々に添加して1分間攪拌し、真空度0～10mmHgで1分間攪拌し脱気してマヨネーズ様乳化食品を調製した。

[0108] 対照として、表10の配合において、予め植物ステロールを菜種油に分散してからマヨネーズ様乳化食品を調製した。即ち、菜種油に植物ステロールを添加し、攪拌機(TKホモミキサー、特殊機化工業社製)に投入し、10000rpmで10分間攪拌して植物ステロール分散油を調製した。次に、卵黄(キューピー社製、加塩卵黄(10%加塩))、卵白液及び清水を家庭用ミキサーに入れて1分間攪拌し、食塩、加工澱粉、辛子粉、キサンタンガム、上白糖、グルタミン酸ナトリウムを添加して1分間攪拌し、植物ステロール分散油を徐々に添加して3分間攪拌し、食酢を徐々に添加して1分間攪拌し、真空度0～10mmHgで1分間攪拌し脱気してマヨネーズ様乳化食品を調製した。

[0109] 参考例1及び対照のマヨネーズ様食品を試食し、舌触りを試験した。また、各マヨネーズ様乳化食品を200g詰用のポリエチレン製の可撓性ボトルに120g詰め、蓋をしないで該可撓性ボトルの中央を手で押し、離すという操作を10回繰り返して分離試験を行い、分離試験直後と分離試験から1日保管後のマヨネーズ様乳化食品の乳化状態を観察した。

結果を表11に示す。

[0110] [表8]

植物ステロールと卵黄リボ蛋白質の複合体の分散液の配合(質量部)

卵黄液(10%加塩) (卵黄リボ蛋白質)	11.04 (3.6)
植物ステロール	6.33
清水	12.63
(合計)	(30.00)

[0111] [表9]

## 参考例1のマヨネーズ様乳化食品の配合(%)

菜種油	28
植物ステロールと卵黄リボ蛋白質の複合体の分散液	30
卵白液	3
食酢	7
食塩	1.3
加工澱粉	3.5
辛子粉	0.2
キサンタンガム	0.5
上白糖	0.5
グルタミン酸ナトリウム	0.5
清水	25.5
(合計)	(100.0)

[0112] [表10]

## 対照のマヨネーズ様乳化食品の配合(%)

菜種油	28.0
卵黄液(10%加塩)	11.04
植物ステロール	6.33
卵白液	3.0
食酢	7.0
食塩	1.3
加工澱粉	3.5
辛子粉	0.2
キサンタンガム	0.5
上白糖	0.5
グルタミン酸ナトリウム	0.5
清水	38.13
(合計)	(100.00)

[0113] [表11]

	食感	分離試験直後	分離試験1日保管後
参考例1	滑らか	分離せず	分離せず
対照	ざらつき有り	割れ目ができ、そこから油が滲んだ	分離試験直後より油の滲みが増加した

[0114] 表11の結果から、植物ステロールを予め菜種油に分散した対照では、食感にざらつきがあり、分離試験直後から割れ目ができて油が滲むこと等から、安定なマヨネーズ様乳化食品が得られないと考えられる。

[0115] これに対して参考例1のマヨネーズ様乳化食品は、植物ステロールと卵黄を予め混合して複合体を形成しておくことにより、食感が滑らかとなり、割れ目ができてそこから油が滲むこともなく、安定した乳化状態のマヨネーズ様乳化食品となる。

[0116] 参考例2:マヨネーズ様乳化食品における、植物ステロールと卵黄リポ蛋白質の複合体の分散液と、植物ステロールとリン脂質の分散液との乳化安定化力の差  
植物ステロールと卵黄リポ蛋白質の複合体の分散液を用いたマヨネーズ様乳化食品と、植物ステロールとリン脂質の分散液を用いたマヨネーズ様乳化食品をそれぞれ次のように調製し、それらの乳化安定性を比較した。

[0117] (1)マヨネーズ様乳化食品の調製

まず、表12の配合により、植物ステロールと卵黄リポ蛋白質の複合体の分散液を、参考例1と同様にして調製した。この場合、卵黄としては、鶏卵を割卵して得た卵黄液(固形分45%)を用いた。

[0118] [表12]

植物ステロールと卵黄リポ蛋白質の複合体の分散液の配合(質量部)

卵黄液 (卵黄リポ蛋白質)	2. 2 (0. 8)
植物ステロール	6. 0
清水	15. 8
(合計)	(24. 0)

[0119] 一方、対照として、表13の配合により、植物ステロールとリン脂質の分散液を次のように調製した。即ち、まず、鶏卵を割卵して得た卵黄液(卵黄固形分45%)を噴霧乾燥し、乾燥卵黄とした後、エタノールで脂質を抽出し、エタノールを除去し、さらにアセトンにより中性脂質を除去して、リン脂質(粉末)を得た。

[0120] このリン脂質に清水を加え、攪拌機(日音医理科器械製作所社製、ヒスコトロン)を用いて5000rpmで2分間攪拌して清水とリン脂質とをなじませ、45℃に加温し、500Orpmで攪拌しながら植物ステロール(実施例1と同じもの)を徐々に添加し、添加し終えたところで、さらに10000rpmで5分間攪拌して植物ステロールとリン脂質との分散液を調製した。

[0121] [表13]

植物ステロールとリン脂質の複合体の配合(質量部)

リン脂質(粉末)	1.2
植物ステロール	6.0
清水	16.8
(合計)	(24.0)

[0122] 得られた各分散液を用いて、表14、表15の配合により、マヨネーズ様乳化食品を調製した。この調製方法は、まず、家庭用ミキサーに分散液、卵白液、清水と共に卵黄液(固形分45%)も入れて攪拌する他は、参考例1と同様とした。

[0123] [表14]

参考例2のマヨネーズ様乳化食品の配合(%)

菜種油	28.0
植物ステロールと卵黄リボ蛋白質の複合体の分散液	24.0
卵黄液	8.0
卵白液	3.0
食酢	7.0
食塩	1.3
加工澱粉	3.5
辛子粉	0.2
キサンタンガム	0.5
上白糖	0.5
グルタミン酸ナトリウム	0.5
清水	23.5
(合計)	(100.0)

[0124] [表15]

对照のマヨネーズ様乳化食品の配合(%)

菜種油	28.0
植物ステロールとリン脂質の分散液	24.0
卵黄液	8.0
卵白液	3.0
食酢	7.0
食塩	1.3
加工澱粉	3.5
辛子粉	0.2
キサンタンガム	0.5
上白糖	0.5
グルタミン酸ナトリウム	0.5
清水	23.5
(合計)	(100.0)

[0125] (2)乳化安定性の比較

植物ステロールと卵黄リポ蛋白質の複合体の分散液を用いたマヨネーズ様乳化食品と、植物ステロールとリン脂質の分散液を用いたマヨネーズ様乳化食品の乳化安定性を次のように調べた。

[0126] 各マヨネーズ様乳化食品200gを、200g詰め用のポリエチレン製の可撓性ボトルに詰めた。蓋をして30°Cで1日保管したものと、蓋をして30°Cで3ヶ月間保管したもののそれについて分離試験(乳化安定性試験)を行った。

分離試験は、蓋をあけ、内容物を80g取り出し、蓋を開けたまま可撓性ボトルの中央を手で押し、離すという操作を10回繰り返し、その繰り返し直後の乳化状態を観察することにより行った。

結果を表16に示す。

[0127] [表16]

	1日後(30℃)	3ヶ月後
植物ステロールと卵黄リポ蛋白質の複合体の分散液	変化なし 乳化状態は安定	変化なし 乳化状態は安定
植物ステロールとリン脂質の分散液	僅かに油がにじんだ	亀裂が入り、油が分離してきた

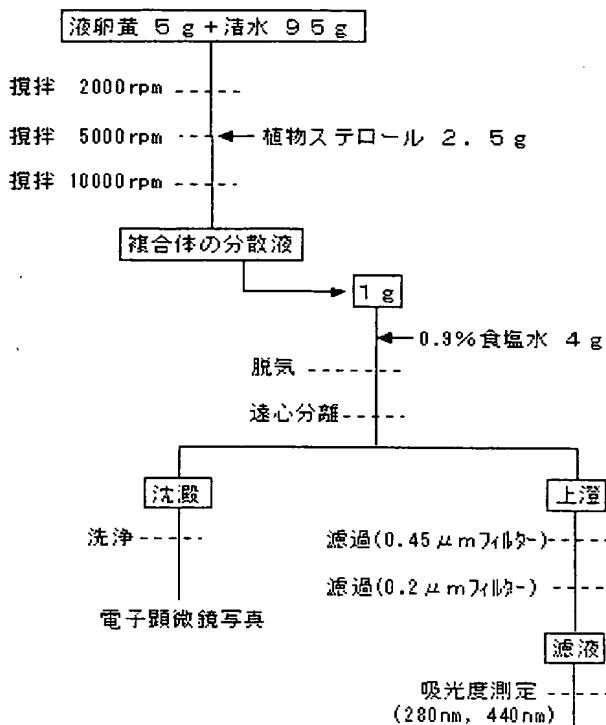
[0128] 表16の結果から、植物ステロールとリン脂質の分散液を用いたマヨネーズ様乳化食品は、一般的なマヨネーズの調製としては十分な量の卵黄液(市販のマヨネーズ様乳化食品中の卵黄液の配合量は3ー15%)を用いているにもかかわらず、僅か1日で油がにじみ出し、3ヶ月後には亀裂ができてさらに油の分離が進んだ。この油の分離の要因としては、植物ステロールとリン脂質が複合体を形成しなかったため、疎水性である植物ステロールの粒子の表面に油が付着し、そこから乳化の破壊が進んだと推察される。

[0129] これに対し、植物ステロールと卵黄リポ蛋白質の複合体の分散液を用いたマヨネーズ様乳化食品は、3ヶ月後も分離せず、乳化安定性が良好であった。これは、植物ステロールと卵黄リポ蛋白質が複合体を形成していたためと推察される。

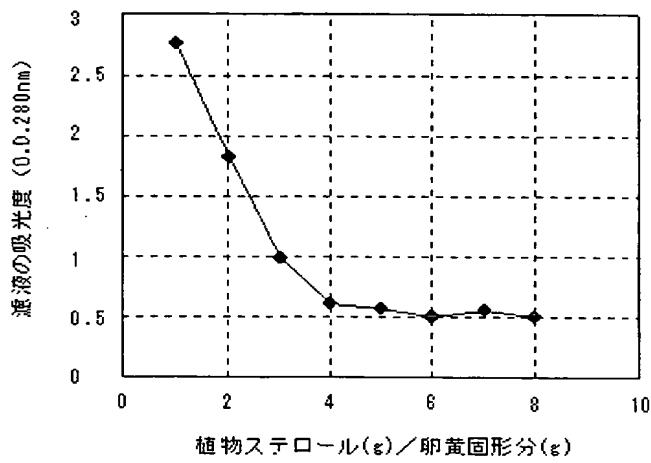
## 請求の範囲

- [1] 植物ステロールと卵黄リポ蛋白質との複合体。
- [2] 卵黄リポ蛋白質が、リゾ化卵黄、脱コレステロール卵黄、又はリゾ化脱コレステロールに含まれるリポ蛋白質である請求項1記載の複合体。
- [3] 植物ステロールと卵黄リポ蛋白質との構成比が、卵黄リポ蛋白質1質量部に対して植物ステロール5～232質量部である請求項1記載の複合体。
- [4] 乾燥粉体である請求項1～3のいずれかに記載の複合体。
- [5] 請求項1～4のいずれかに記載の複合体を含有する食品。
- [6] 卵黄リポ蛋白質と植物ステロールとを水系媒体中で攪拌混合することを特徴とする請求項1～4のいずれかに記載の複合体の製造方法。
- [7] 卵黄リポ蛋白質1質量部に対して植物ステロール232質量部以下を使用する請求項6記載の複合体の製造方法。
- [8] 卵黄リポ蛋白質として卵黄液を使用する請求項6又は7記載の複合体の製造方法。  
。
- [9] 卵黄リポ蛋白質として卵黄希釀液を使用する請求項6又は7記載の複合体の製造方法。
- [10] 卵黄固形分1質量部に対して、植物ステロール185質量部以下を使用する請求項8又は9記載の複合体の製造方法。
- [11] 植物ステロールの平均粒径が50  $\mu$  m以下である請求項6～10のいずれかに記載の複合体の製造方法。

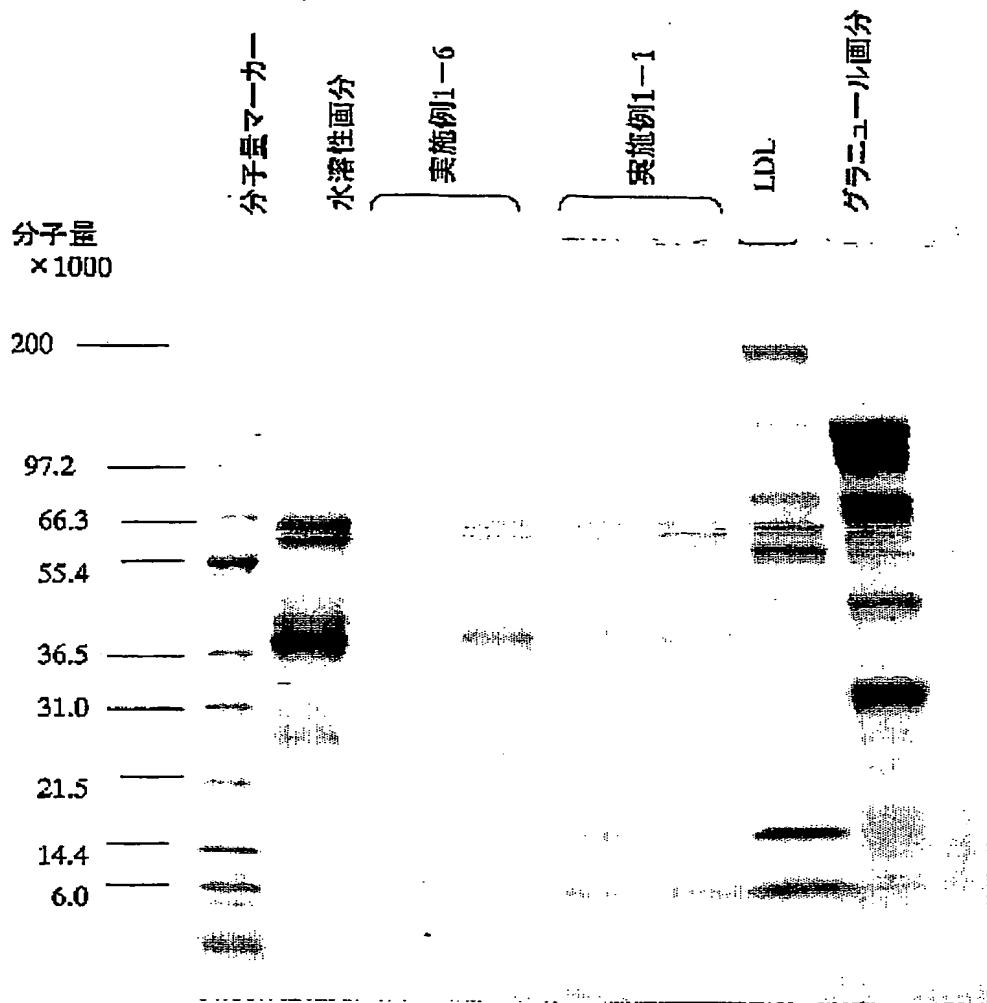
[図1]



[図2]



[ 図 3 ]



[ 図 4 ]

3/3



差替え用紙(規則26)

VIII-5-1	不利にならない開示又は新規性喪失の例外に関する申立て 不利にならない開示又は新規性喪失の例外に関する申立て(規則4.17(v)及び51の2.1(a)(v)) 氏名(姓名)	本国際出願 に關し、 キユーピー株式会社 は、本国際出願の請求項に記載された対象が以下のように開示されたことを申し立てます。
VIII-5-1(i)	開示の種類:	刊行物
VIII-5-1(ii)	開示の日付:	2004年 09月 02日 (02. 09. 2004)
VIII-5-1(iii)	開示の名称:	卵黄リポタンパク質との複合体形成による植物性ステロールの親水化
VIII-5-1(iv)	開示の場所:	岩手大学 人文社会科学部
VIII-5-1(i)	開示の種類:	その他: 学会発表
VIII-5-1(ii)	開示の日付:	2004年 09月 02日 (02. 09. 2004)
VIII-5-1(iii)	開示の名称:	卵黄リポタンパク質との複合体形成による植物性ステロールの親水化
VIII-5-1(iv)	開示の場所:	岩手大学 人文社会科学部
VIII-5-1(v)	本申立ては、次の指定国のためになされたものである。:	すべての指定国

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP2004/016141

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**

Int.Cl' A23L1/30, 1/305, 1/24, A23J3/04

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

**B. FIELDS SEARCHED**

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl' A23L1/30-1/305, 1/24, A23J3/04, A23L1/30-1/305, A23D7/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2001-000138 A (Kao Corp.), 09 January, 2001 (09.01.01), & WO 2000/78162 A2 & EP 1185179 A2 & US 6635777 B1	1-11
A	JP 2002-171931 A (Asahi Denka Kogyo Kabushiki Kaisha), 18 June, 2002 (18.06.02), (Family: none)	1-11
A	JP 2003-221332 A (Kao Corp.), 05 August, 2003 (05.08.03), (Family: none)	1-11

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step where the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
24 January, 2005 (24.01.05)

Date of mailing of the international search report  
08 February, 2005 (08.02.05)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Faxsimile No.

Telephone No.

## 国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP2004/016141

## A. 発明の属する分野の分類(国際特許分類(IPC))

Int. Cl' A23L 1/30, 1/305, 1/24, A23J 3/04

## B. 調査を行った分野

## 調査を行った最小限資料(国際特許分類(IPC))

Int. Cl' A23L 1/30~1/305, 1/24, A23J 3/04, A23L 1/30~1/305, A23D 7/00

## 最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

## 国際調査で使用した電子データベース(データベースの名称、調査に使用した用語)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP 2001-000138 A (花王株式会社) 2001.01.09 & WO 2000/78162 A2 & EP 1185179 A2 & US 6635777 B1	1-11
A	JP 2002-171931 A (旭電化工業株式会社) 2002.06.18 (ファミリーなし)	1-11
A	JP 2003-221332 A (花王株式会社) 2003.08.05 (ファミリーなし)	1-11

 C欄の続きにも文献が列挙されている。 パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

- 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
- 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
- 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献(理由を付す)
- 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
- 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

## の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

## 国際調査を完了した日

24.01.2005

## 国際調査報告の発送日

08.02.2005

## 国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

## 特許庁審査官(権限のある職員)

鈴木 恵理子

4N

8114

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** \_\_\_\_\_

### **IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**